



Effect of Auxin 2,4-D and NAA on Induction Callus and Adventitious Shoots and Roots regeneration from half Shoot Tips Culture of white ginger (*Zingiber officinale* var. Roscoe)

Huda A. Al-Taha¹Abdulelah A. Al-Mayah²Widad A. Abd Al-Behadili³

1. Department of Horticulture and Landscape Design, College of Agriculture, University of Basrah, Basrah, Iraq. altahahuda@gmail.com
2. Department of Clinical Laboratory Sciences, College of Pharmacy, University of Basrah, Basrah, Iraq altahahuda@gmail.com
3. Department of Pharmacognosy and Medicinal Plants, College of Pharmacy, University of Misan, Misan, Iraq. altahahuda@gmail.com

Article Information

Submission date: 26/5 / 2020**Acceptance date:** 23 /6/ 2020**Publication date:** 31/ 6 / 2020

Abstract

This study was conducted in plant tissue culture laboratory of Agriculture College, Basrah university, Iraq during the period 2018-2019. The aims of this study were to find out the effect of different concentration of two auxin 2,4-D and NAA to induce the callus and regeneration of adventitious shoots and roots of *Zingiber officinale* Rosc. white via culture of half shoots tips. Results of the present study revealed that medium of MS containing 1.0 mg.l⁻¹ 2,4-D + 0.5 mg.l⁻¹ BA + 500 mg.l⁻¹ PVP caused primary callus formation (100%) with high diameter, fresh and dry weight of callus (2.26 cm, 1.95 mg and 0.12 mg); respectively. Results also showed that MS medium containing 30.0 mg.l⁻¹ + 3 mg.l⁻¹ 2ip + 500 mg.l⁻¹ PVP caused the higher primary callus formation (100%) within (11.33 days) and a higher diameter, fresh and dry weight of callus (2.50 cm , 0.86 mg and 0.14 mg); respectively. However adventitious roots were regenerated from primary callus in all concentration of NAA, whereas the medium MS containing 10.0 mg.l⁻¹ NAA was gave the highest number and length of roots (13.33 root .callus and 2.83cm). When the activated charcoal (500 mg.l⁻¹) was replaced by PVP in the same medium containing 30.0 mg.l⁻¹ NAA response was found at the end of the incubation period, small green adventitious shoots and white roots were regenerated.

Keywords: 2,4-D, NAA, Callus, Organogenesis, ginger *Zingiber officinale* var. Roscoe white

تأثير الاوكسين 2,4-D و NAA في استحثاث الكالس وتوالد الاعضاء من زراعة انصاف البراعم الطرفية Shoot tips لنبات الزنجبيل الابيض . *Zingiber officinale* var. (Roscoe)

هدى عبد الكريم الطه¹ ، عبد الاله عبد الحسين المياح² ، وداد علي عبد البهادلي³

1 قسم البستنة وهندسة الحدائق - كلية الزراعة - جامعة البصرة - البصرة-العراق

2 فرع العلوم المختبرية السريرية - كلية الصيدلة - جامعة البصرة - البصرة-العراق

3 فرع العقاقير والنباتات الطبية - كلية الصيدلة - جامعة ميسان - ميسان-العراق

altahahuda@gmail.com

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في مختبر زراعة الانسجة النباتية في كلية الزراعة - جامعة البصرة - العراق خلال المدة 2018-2019 بهدف دراسة تأثير تراكيز مختلفة من الاوكسين 2,4-D و NAA في استحثاث الكالس وتوليد الافرع والجذور العرضية من زراعة انصاف البراعم الطرفية لنبات الزنجبيل الابيض *Zingiber officinale* Rosc. ، تشير النتائج ان الوسط الغذائي MS المزود بالاوكسين 2,4-D بتركيز 1.0 ملغم.لتر⁻¹ مع وجود BA بتركيز 0.5 ملغم.لتر⁻¹ + 500 ملغم.لتر⁻¹ PVP اعطى اعلى نسبة مئوية لاستحثاث الكالس بلغت 100% واكبر قطر ووزن طري وجاف لكتلة الكالس بلغت 2.26 سم و 1.95 و 0.12 ملغم بالتتابع، واطهرت النتائج ايضاً الى ان الوسط الغذائي MS والمزود بالاوكسين NAA بتركيز 30.0 ملغم.لتر⁻¹ و 2ip بتركيز 3 ملغم.لتر⁻¹ + PVP بتركيز 500 ملغم.لتر⁻¹ قد اعطى اعلى نسبة مئوية لاستحثاث الكالس بلغت 100% في فترة قصيرة بلغت 11.33 يوم واعلى قطر ووزن طري وجاف لكتلة الكالس بلغت 2.50 سم و 0.86 ملغم و 0.14 ملغم بالتتابع كذلك تمت عملية توليد الجذور العرضية بيضاء اللون في جميع تراكيز NAA الا ان التركيز 10.0 ملغم.لتر⁻¹ NAA قد اعطى اعلى معدل لعدد الجذور واطوالها بلغت 13.33 جذر/ كتلة كالس و 2.83 سم بالتتابع. كذلك اوضحت النتائج عند استبدال PVP بالفحم المنشط بتركيز 500 ملغم.لتر⁻¹ اظهرالوسط الغذائي MS المزود بالاوكسين NAA 30.0 ملغم.لتر⁻¹ نقص الكالس ثم ظهر نتوء اخضر صغير تميز الى فرع خضري مع ظهور جذور بيضاء اللون في نهاية فترة التحضين.

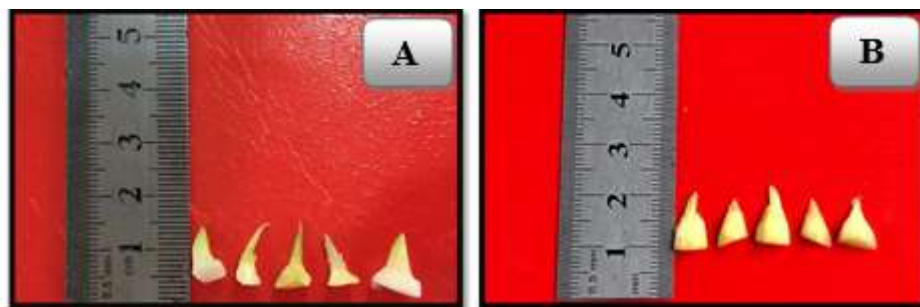
الكلمات الدالة: 2,4-D ، NAA، كالس، توالد الاعضاء، الزنجبيل *Zingiber officinale* صنف Roscoe white.

المقدمة

ينتمي نبات الزنجبيل الى العائلة الزنجبيلية *Zingiberaceae* وهي واحدة من أكبر عائلات نوات الفلقة الواحدة Monocotyledon التي تضم العديد من النباتات الطبية منها الكركم *Curcuma longa* L. والهيل *Elettaria cardamomum* (L.) Maton [1]. الزنجبيل *Zingiber officinale* نبات طبي عشبي رايزومي معمر يصل طوله الى 90 سم، رايزوماتها تكون على هيئة كفوف، يتوقف المجموع الخضري عن النمو عند حلول فصل الخريف فتقوم الرايزومات بتخزين المواد الفعالة لهذا يعد فصل الخريف أنسب الأوقات لجمعها [2]. استعمال الاكثار الخضري بواسطة تقنية زراعة الانسجة للحصول على اعداد كبيرة تصل الى ملايين من النباتات المتجانسة وذلك من تمايز الكالس وتوالده للاعضاء، اذ تمكنت خليل [3] من استحثاث الكالس لصنف نخيل التمر البرحي بعد 90 يوماً في الوسط الغذائي MS والمجهز بـ 30.0 ملغم. لتر⁻¹ من الاوكسين NAA و3 ملغم. لتر⁻¹ من السايوتوكاينين 2ip. وتوصل [4] الى عملية تحفيز الكالس الاولي من زراعة البراعم اطراف الافرع Shoot tips لنبات *Curcuma mangga* في وسط MS مزود بالـ 2,4-D بتركيز 0.1 ، 1.0 ، 2.0 ، 4.0 ، 8.0 ملغم. لتر⁻¹ اذ سجل اعلى نسبة استحثاث للكالس عند التركيز 1.0 ملغم. لتر⁻¹ 2,4-D. وبين [5] عملية استحثاث الكالس من زراعة البراعم الطرفية (Shoot tip) لنبات الزنجبيل *Z. officinale* على وسط غذائي مكون من املاح MS ومجهز بالاوكسين 2,4-D بتركيز 0.5 ، 1.0 ملغم. لتر⁻¹ و BA 0.0 ، 0.1 ، 0.5 ، 1.0 ملغم. لتر⁻¹ وقد اعطى التركيز 1.0 ملغم. لتر⁻¹ 2,4-D + 0.5 BA أعلى وزن للكالس. تهدف هذه الدراسة الى معرفة تأثير منظمات النمو 2,4-D و NAA والتراكيز المثلث لها لاستحثاث الكالس وتوالد الاعضاء عند زراعة انصاف اطراف الافرع لنبات الزنجبيل.

المواد وطرائق العمل

اجريت هذه الدراسة في مختبر زراعة الانسجة النباتية في كلية الزراعة - جامعة البصرة خلال المدة 2018-2019، اذ استوصلت أطراف الافرع (Shoot tips) من رايزومات الزنجبيل بواسطة مشروط حاد (شفرة) بطول 1.0 سم ثم جزء طويلاً الى قسمين متساويين لوحة (A,B-1) حفظت في بيكرات زجاجية تحتوي على محلول مانع للأكسدة (Antioxidant solution) الذي يتكون من (150 ملغم. لتر⁻¹ حامض الستريك Citric acid + 100 ملغم. لتر⁻¹ حامض الأسكوربك Ascorbic acid) [6]. ووضعت بالثلاجة على درجة حرارة 4 °م ولمدة 24 ساعة الى حين اجراء عملية التعقيم السطحي وذلك للتخلص من أثر المركبات الفينولية الضار، غسلت الاجزاء النباتية عدة مرات لازالة محلول مانع الاكسدة ثم وضعت مباشرة في المبيد الفطري Elsa بتركيز 500 ملغم. لتر⁻¹ ولمدة خمس دقائق، ثم وضعت بعدها في محلول هايبيوكلو رايد الصوديوم (NaOCl) بتركيز 1.05% مع 3-4 قطرات من المادة الناشرة Tween - 20 ولمدة 15 دقيقة ثم غسلت بالماء المقطر والمعقم عدة مرات، واستعملت الاجزاء النباتية بواقع 20 مكرراً لكل من انصاف البراعم الطرفية لاستحثاث الكالس. ان الوسط الغذائي المستعمل في كل التجارب مكون من املاح MS [7] مع اضافة بعض المواد لهذا الوسط الغذائي وكما موضح في جدول (1)



لوحة (1) براعم مستأصلة من رايزومات نبات الزنجبيل *Zingiber officinale* صنف Roscoe white (A) براعم كاملة و (B) انصاف البراعم

جدول (1) تركيز المواد المضافة الى الوسط الغذائي [7]

الكمية ملغم. لتر ⁻¹	اسم المادة
4.330	املاح MS
30000	Sucrose سكروز
80	Adenine Sulphate (كبريتات الادنين)
1	Thiamin-HCl
170	اورثو فوسفات الصوديوم الحامضية Sodium hydrogen orthophosphates
8000	Agar
150	حامض الستريك Citric acid
100	حامض السكوربيك Ascorbic acid

تم اضافة الاوكسين 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) بتركيز 0.5 و 1.0 و 2.0 و 3.0 ملغم.لتر⁻¹ مع وجود 0.5 ملغم.لتر⁻¹ Benzyl Adenine(BA) بتركيز ثابت و 500 ملغم.لتر⁻¹ (PVP) Polyvinyl pyridine او α -Naphthalene acetic acid (NAA) بتركيز 0.0 و 10.0 و 20.0 و 30.0 ملغم.لتر⁻¹ مع وجود 3 ملغم.لتر⁻¹ Isopentenyl adenine (2iP) مع وجود PVP بتركيز 500 ملغم.لتر⁻¹ وفي تجربة اخرى اضيف الفحم المنشط بتركيز 500 ملغم.لتر⁻¹ بهدف تحفيز الكالس الاولي من زراعة انصاف البراعم الطرفية لنبات الزنجبيل ولمدة ثمانية اسابيع. ثبت قيمة pH بين 5.7-5.8 قبل اضافة Agar بتركيز 8 غم.لتر⁻¹

استمرت عملية اكثار الكالس وتوالد الاعضاء لمدة ثمانية اسابيع ، تم زراعة انصاف البراعم الابطية في انابيب اختبار احتوت على 15 مل و وقناني احتوت على 30 مل من الاوساط الغذائية السابقة الذكر . تم تعقيم جميع انابيب الزراعة الحاوية على الاوساط الغذائية في جهاز التعقيم (Autoclave) تحت ضغط 1.1 كغم.سم³ ولمدة 20 دقيقة تحت درجة حرارة 121 °م.

النتائج والمناقشة

1. تأثير مستويات مختلفة من الاوكسين 2,4-D في استحثاث الكالس

تبين النتائج الموضحة في الجدول (2) واللوحة (2) ان الوسط الغذائي MS المزود بتركيز 1.0 ملغم.لتر⁻¹ 2,4-D قد تفوق معنوياً على جميع التراكيز اذ اعطى اعلى نسبة مئوية وأكبر قطر لكتلة الكالس وأكبر وزن طري وجاف للكالس من التراكيز الأخرى بلغت 100%، 2.26 سم ، 1.95 ملغم و 0.12 ملغم بالتتابع ثم يليه التركيز 0.5 ملغم.لتر⁻¹ 2,4-D اذ بلغت 87.5 %، 1.40 سم ، 0.78 ملغم و 0.05 ملغم بالتتابع في حين لم يكن هنالك اي فروق معنوية عند التركيز 0.5 ملغم.لتر⁻¹ في صفة عدد الايام لنشوء الكالس وقد يعود السبب في تفوق تركيز 1.0 ملغم.لتر⁻¹ 2,4-D في جميع الصفات الى ان الاوكسين 2,4-D يعد من اكثر الاوكسينات نشاطاً وتهيئة للانقسام وتكوين الكالس [8]، [9] ، كذلك فأن اضافة كلا من منظمي النمو الى الوسط الغذائي ضروري لاستحثاث الكالس في هذه النباتات اذ يعمل الساييتوكاينين بوجود الاوكسين كمفتاح لبدء الانقسام الخلوي وقد يكون الادنين في جزيئة الساييتوكاينين هو الذي يؤدي دوره الاساسي في انقسام الخلية، اما عند زيادة التركيز فإنه سوف يؤدي الى الاخلال بالتوازن الامثل مما يؤدي الى انخفاض معدل الاستجابة وهذا ما اكده [10] بأن التراكيز العالية للاوكسين 2,4-D تؤدي الى تثبيط نمو الخلايا وربما توقفها عن الانقسام والاتساع او قد يعزى السبب في انخفاض معدلات وزن الكالس عند ارتفاع الاوكسين 2,4-D في الوسط الغذائي الى دور هذا الاوكسين في تحفيز انتاج الاثيلين الذي يقلل من معدل انقسام الخلايا وبذلك يؤثر على نمو الكالس، اذ ان الاوكسينات الصناعية تحرر الاثيلين بحوالي الضعف [11] ، [12] . تتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه الباحثين [5]، [13] ، [14] ، [15] حول استحثاث الكالس اذ اوضحوا أن التركيز 1.0 ملغم.لتر⁻¹ 2,4-D أعطى أكبر كمية من كتلة الكالس واعلى نسبة مئوية لاستحثاث الكالس عند زراعة البراعم الطرفية لنبات الزنجبيل.

جدول رقم (2) تأثير تراكيز مختلفة من الأوكسين 2,4-D والـ BA بتركيز ثابت 0.5 ملغم.لتر⁻¹ في استحثاث الكالس من زراعة انصاف البراعم الطرفية في نبات الزنجبيل صنف " Roscoe White " بعد مرور ثمانية أسابيع في الظلام

المعاملة 2,4-D ملغم.لتر ⁻¹	عدد الأيام اللازمة لنشوء الكالس. يوم	النسبة المئوية % لاستحثاث الكالس	قطر كتلة الكالس. سم	الوزن الطري. ملغم	الوزن الجاف. ملغم
0.5	15.33	87.5	1.40	0.78	0.05
1.0	11.67	100	2.26	1.95	0.12
2.0	21.00	62.5	0.86	0.32	0.03
3.0	25.00	50	0.80	0.31	0.03
L.S.D 0.01	5.42	—	0.33	0.10	0.02



لوحة (2) تأثير تراكيز مختلفة من 2,4-D مع وجود السايكوكالين BA بتركيز ثابت 0.5 ملغم. لتر⁻¹ في تحفيز الكالس الأولي من زراعة انصاف البراعم الطرفية لنبات الزنجبيل لمدة ثمانية اسابيع في الظلام

2. تأثير مستويات مختلفة من NAA في استحثاث الكالس وتوالد الاعضاء

1.2 تأثير اضافة NAA و 2ip مع PVP في استحثاث الكالس وتوالد الاعضاء

تبين النتائج في الجدول (3) واللوحة (3) ان الوسط الغذائي MS المزود بالـ NAA بتركيز 30.0 ملغم.لتر⁻¹ مع وجود 2ip بتركيز 0.5 ملغم.لتر⁻¹ و PVP بتركيز 500 ملغم.لتر⁻¹ قد تفوق معنوياً على جميع التركيزات في صفة عدد الايام لنشوء الكالس والنسبة المئوية لاستحثاث الكالس و الوزن الطري والجاف لكتلة الكالس اذ بلغت 11.33 يوم ، 100% ، 0.14 سم، 2.50 ملغم، 0.86 ملغم بالتتابع، في حين سجل اقل عدد ايام لنشوء الكالس واقل نسبة مئوية لاستحثاث الكالس واقل قطر ووزن طري وجاف لكتلة الكالس عند معاملة المقارنة 0.0 ملغم.لتر⁻¹ بلغت 28 يوم ، 37.5 % ، 0.50 سم ، 0.12 ملغم ، 0.03 ملغم بالتتابع، وقد يعود سبب استجابة القطع النباتية المزروعة في

الوسط الغذائي MS والمزودة بـ 30.0 ملغم. لتر⁻¹ الى استحثاث الكالس بصورة عامة على المستوى الداخلي لمنظمات النمو وكمية الامتصاص لهذه المنظمات المزودة في الوسط الغذائي للوصول إلى مستوى مناسب لتكوين الكالس ونموه [16]. وكذلك اكد [17] ان التراكيز العالية من الاوكسين والتراكيز المخفضة من السايكوكاينين تحفز على تكوين الخلايا المترابطة ومن ثم تكوين نسيج الكالس.

تتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه الباحثين [3]، [18]، [19]، [20]، [21] اذ اكدوا أن التركيز 30.0 ملغم. لتر⁻¹ من NAA هو التركيز المثالي لاستحثاث الكالس عند زراعتهم البراعم القمية لنبات النخيل صنف البرحي و صنف Loko و Zebia و صنف الخصاب وأم الدهن والشريفي والعويدي والبطاطا صنف Heera بالتتابع. يوضح الجدول نفسه الى تفوق الوسط الغذائي MS والمزود بالـ NAA بتركيز 10.0 ملغم. لتر⁻¹ معنوياً على جميع التراكيز ومن ضمنها معاملة المقارنة اذ اعطى اعلى عدد وطول للجذور بلغت 13.33، 2.83 سم بالتتابع اذ تكونت جذور عديدة سميكة وقصيرة بيضاء اللون تحتوي على شعيرات رفيعة جدا ممتدة في الوسط الغذائي على حساب كتلة الكالس، وقد يعود السبب في تفوق التركيز المنخفض 10.0 ملغم. لتر⁻¹ NAA في نشوء الجذور العرضية من الكالس باعتبار هذا التركيز هو التركيز المثالي لنشوء الجذور فضلاً عن ذلك فإن الاوكسين عندما يضاف بتركيز منخفض في الوسط الغذائي يساعد على عملية انقسام الخلايا واستطالتها ومن ثم تحفيز بادئات الجذور Root initials [22]، اما سبب عدم استجابة انصاف البراعم الطرفية لاستحثاث الكالس في التركيز 0.0 ملغم. لتر⁻¹ وذلك بسبب خلو الوسط الغذائي من الاوكسين.

جدول رقم (3) تأثير تراكيز مختلفة من الأوكسين NAA والـ 2ip بتركيز ثابت 3 ملغم. لتر⁻¹ و PVP في استحثاث الكالس من زراعة انصاف البراعم الطرفية في نبات الزنجبيل صنف " White Roscoe " بعد مرور ثمانية أسابيع في الظلام

المعاملة NAA ملغم. لتر ⁻¹	عدد الأيام اللازمة لنشوء الكالس	النسبة المئوية % لاستحثاث الكالس	قطر كتلة الكالس سم	الوزن الطري غم	الوزن الجاف ملغم	معدل عدد الجذور	معدل طول الجذور. سم
0.0	27.67	37.5	0.50	0.12	0.03	0.0	0.0
10.0	21.33	50	1.16	0.42	0.05	13.33	2.83
20.0	15.33	75	2.00	0.50	0.04	6.0	1.16
30.0	11.33	100	2.50	0.86	0.14	3.33	0.50
L.S.D _{0.01}	2.85	—	0.40	0.03	0.01	5.25	0.56



لوحة (3) تأثير تراكيز مختلفة من NAA مع وجود السايكوكالين 2ip بتركيز ثابت 3 ملغم لتر⁻¹ و PVP في تحفيز الكالس الأولي من انصاف البراعم الطرفية لنبات الزنجبيل لمدة ثمانية أسابيع في الظلام.

2.2 تأثير اضافة NAA و 2ip مع الفهم المنشط في استحثاث الكالس وتوالد الاعضاء

توضح اللوحة (4) تكون الكالس بشكل حبيبات بيضاء ذات كتل مختلفة الاحجام في جميع التراكيز المزودة بالاكسين NAA ماعدا معاملة المقارنة، اذ بدأ استحثاث الكالس من اسفل انصاف البراعم واستمر بالاستحثاث والتكوين الى ان غطى كل الاجزاء لانصاف البراعم لمدة اربعة اسابيع ويلاحظ من الجدول (4) ان هنالك تفوقا معنويا عند التركيز 30.0 ملغم.لتر⁻¹ في صفة عدد الايام لنشوء الكالس والنسبة المئوية لاستحثاث الكالس وقطر ووزن الطري والجاف لكتلة الكالس اذ بلغت 11.67 يوم، 100 %، 2.83 سم، 2.13 ملغم، 0.09 ملغم بالتتابع، وقد يعود السبب الى ان التراكيز العالية من الأوكسينات تؤثر في عمل الأنزيمات المسؤولة عن بناء الجدار الخلوي وتحللها مما يؤثر في الخصائص الميكانيكية في الجدار الخلوي والتأثير في انقسام الخلايا وتكوين الكالس [23]. ويلاحظ من اللوحة (5) تكون جذور بيضاء وسميكة ممتدة في داخل الوسط الغذائي من بداية الاسبوع الخامس الى نهاية فترة التحضين في التراكيز الثلاثة للـ NAA ماعدا معاملة المقارنة اذ لم تتكون الجذور اذ يلاحظ تفوق التركيز 20 ملغم.لتر⁻¹ على التركيزين 0.0 و 10.0 ملغم.لتر⁻¹ في معدل عدد الجذور اذ بلغت 3.67 جذر، بينما لم تكن هنالك اي فرق معنوي عند التركيز 30.0 ملغم.لتر⁻¹ في نفس الصفة. وعلى الرغم من تفوق التركيز 20.0 ملغم.لتر⁻¹ في صفة معدل طول الجذور الا انه لم يكن هنالك فروق معنوية مع التركيزين 10.0 و 30.0 ملغم.لتر⁻¹ مقارنة مع معاملة السيطرة.

جدول (4) تأثير تراكيز مختلفة من NAA مع وجود الساييتوكاينين 2ip بتركيز ثابت 3 ملغم. لتر⁻¹ مع وجود الفهم في تحفيز الكالس الأولي من انصاف البراعم الطرفية لنبات الزنجبيل صنف " White Roscoe " لمدة ثمانية اسابيع في الظلام.

المعاملة NAA ملغم.لتر ⁻¹	عدد الأيام اللازمة لنشوء الكالس	النسبة المئوية % لاستحثاث الكالس	قطر كتلة الكالس سم	الوزن الطري ملغم	الوزن الجاف ملغم	معدل عدد الجنود	معدل طول الجنود.سم
0.0	26.67	25	0.50	0.25	0.01	0.00	0.00
10.0	19.67	62.5	1.23	0.45	0.05	1.33	1.17
20.0	15.33	87.5	1.73	0.56	0.06	3.67	1.50
30.0	11.67	100	2.83	2.13	0.09	2.00	1.16
L.S.D 0.01	3.16	—	0.62	0.09	0.009	1.12	0.56

توضح لوحة (4) نشوء فرع خضري من حبيبات الكالس في التركيز 30.0 ملغم.لتر⁻¹ NAA في نهاية فترة التحضين، وقد يعود السبب في توليد الافرع العرضية من الكالس الى وجود الاوكسينات التي تعمل على انقسام الخلايا واستطالتها والى دور الساييتوكاينينات في نشوء وتمايز الافرع [22]. تتفق هذه الدراسة مع ما أشار اليه الباحثون [24] حول استحثاث الكالس الأولي من زراعة البراعم الأبوية في نبات الأناناس صنف Del Monte إذ أكدوا أن اضافة الأوكسين NAA بتركيز عالية ومتداخلة مع الساييتوكاينينات الى الوسط الغذائي سبب استحثاث الكالس وايضا تتفق هذه النتيجة مع ماتوصل اليه [25] الى ان الاوكسين NAA ادى الى تمايز الأفرع العرضية من الكالس النشط والمستحث من قطع الاوراق الفتية لنبات الزنجبيل.



لوحة (4) تأثير تراكيز مختلفة من NAA مع وجود السايوتوكاينين 2ip بتركيز ثابت 3 ملغم.لتر⁻¹ بوجود الفحم في تحفيز الكالس الأولي من انصاف البراعم الطرفية لنبات الزنجبيل لمدة اربعة أسابيع في الظلام.



لوحة (5) تأثير تراكيز مختلفة من NAA مع وجود السايوتوكاينين 2ip بتركيز ثابت 3 ملغم.لتر⁻¹ بوجود الفحم في تحفيز الكالس الأولي من انصاف البراعم الطرفية لنبات الزنجبيل لمدة ثمانية أسابيع في الظلام.



لوحة (6) توضيح بداية توالد الأفرع العرضية في الوسط الغذائي MS والمزود الـNAA بتركيز 30 ملغم.لتر⁻¹ مع تركيز ثابت من الـ2ip 3 ملغم.لتر⁻¹ بعد مرور ثمانية أسابيع في الظلام.

الاستنتاجات

- 1- ان اضافة الاوكسين 2,4-D بتركيز 1 ملغم.لتر⁻¹ مع وجود الساييتوكاينين BA بتركيز 0.5 ملغم.لتر⁻¹ قد اعطى اعلى وزن طري وجاف للكالس المستحث من انصاف البراعم الطرفية لنبات الزنجبيل .
- 2 - ويلاحظ من تجريه الاوكسين NAA ان التركيز 30 ملغم.لتر⁻¹ مع وجود 2ip بتركيز 3 ملغم.لتر⁻¹ و PVP بتركيز 500 ملغم.لتر⁻¹ قد اعطى اعلى وزن طري وجاف للكالس المستحث، اما التركيز 10 ملغم.لتر⁻¹ NAA فقد اعطى اعلى معدل لعدد وطول الجذور .
- 3- وفي نفس تجرية NAA مع استبدال PVP بالفحم النشط بتركيز 500 ملغم.لتر⁻¹ نستنتج ايضا ان التركيز 30 ملغم.لتر⁻¹ قد اعطى اعلى وزن طري وجاف للكالس المستحث ، وايضا لوحظ ان التركيز نفسه قد ادى الى توالد الافرع الخضرية ، اما التركيز 20 ملغم.لتر⁻¹ فقد اعطى اعلى معدل لعدد وطول الجذور.

Conflict of Interests.

There are non-conflicts of interest .

المصادر

- 1-Wohlmuth, H.; Leach, D.; Smith, M. and Myers, S. (2005). Gingerol Content of Diploid and Tetraploid Clones of Ginger (*Zingiber Officinal*). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53:5772-5778.
- 2- قطب، فوزي طه (1979). النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها. ليبيا- تونس. صفحة 66.
- 3- خليل، أماني إسماعيل (2002). استخدام بعض البدائل عن منظمات النمو النباتية في إكثار نخلة التمر *Phoenix dactylifera* L. خارج الجسم الحي. رسالة ماجستير، قسم البستنة والنخيل، كلية الزراعة، جامعة البصرة .
- 4- Sundram, T. C. M.; Annuar, M. S. M. and Khalid, N. (2012). Optimization of culture condition for callus induction from shoot buds for establishment of rapid growing cell suspension cultures of Mango ginger (*Curcuma mangga*). AJCS 6(7):1139-1146.
- 5- El-Nabarawy, M. A.; El-Kafafi, S. H.; Hamza, M. A. and Omar, M. A. (2015). The effect of some factors on stimulating the growth and production of active substances in *Zingiber officinale* callus cultures. Ann Agric. Sci., 60:1-9.
- 6- Tisserat, B. and Ziad, A. (1983). *In vitro* shoot- tip differentiation in *Phoenix dactylifera* L. Date Plam J., 2(2): 163-182 .
- 7- Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant, 15: 473-492.
- 8- Staba, E. J. (2000). Plant tissue culture as a source of biochemical. CRC press, INC. Boco. Raton, Florida.1-271.
- 9 - فهمي، فكري جلال محمد (2003). زراعة الانسجة النباتية. دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع-كلية الزراعة- جامعة اسيوط- مصر .

- 10- ذملن، م، روبرت وويذام هـ، فرنسيس (1998). فسيولوجيا النبات. ترجمة (شرافي، محمد محمود وخضر، عبد الهادي وسلام علي سعد السعدني وكامل، نادية، الدار العربية للنشر والتوزيع، الطبعة الثانية، 671-673.
- 11- Moore, T.C. (1979). Physiology and Biochemistry of Plant Hormones. Academic Press, New York.
- 12- Trigiano, R.N. and Gray, D.J. (2000). Plant Tissue culture concepts and Laboratory Exercises. CRC Press LLC.
- 13- Samsudeen, K.; Nirmal Babu, K.; Divakaran, M. and Ravindran, P.N. (2000). Plant regeneration from anther derived callus cultures of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). Journal of Horticultural Science and Biotechnology 75(4):447-450.
- 14- Paul, R. and Shylaja, M. R. (2010). Indirect organogenesis in ginger. Indian Journal of Horticulture, 67(4):513-517.
- 15- Ali, A. M. A.; El-Nour, M. E. M. and Yagi, S. M. (2016). Callus induction, direct and indirect organogenesis of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). Afr. J. Biotechnol., 15(38): 2106-2114.
- 16- Street, H.E. (1977). Plant Tissue and Cell Culture. Blackwell Scientific Publication. Oxford. London. Edinburgh. Melbourne.
- 17- Evans, D. A.; Sharp, W. R. and Flick, C. E. (1981). Growth and behaviour of cell cultures: Embryogenesis and organogenesis. In: Plant Tissue Culture Methods and Application in Agriculture, (T.A. Thorpe, ed.), Academic Press, New York, PP. 45-114.
- 18- Eke, C.; Akomeah, P. and Asemoto, O. (2005). Somatic embryo- genesis in date palm from apical meristem tissue from "Zebia and Loko" landraces. Afr. J. Biot., 4 (3) :244-246.
- 19- المياحي، احمد ماضي وحيد (2008). اكثار بعض اصناف نخيل التمر النادرة بتقانة زراعة الانسجة، اطروحة دكتوراه - كلية الزراعة- جامعة البصرة ، العراق.
- 20- العلي، زياد طارق صافي عبد (2014). تأثير الباكلوبيوترازول والكايزين في تكوين الاجنة الخضرية وانباتها لنخلة التمر *Phoenix dactylifera* L. صنف نيرسي ، اطروحة دكتوراه - كلية الزراعة- جامعة البصرة، العراق.
- 21- Abu Kawochar, M.; Ahmed, N. U.; Hossain, M. I and Ferdous, J. (2017). Role of Explants and NAA on Callus Induction of Potato (*Solanum tuberosum*). American Journal of Life Sciences 5(5):140-144.
- 22- Auge, R. (1984). Les phenomenes physiologiques de la germination des cultures.
- 23- Taiz, L. and Zeiger, E. (2002). Plant physiology. 3rd edition. Sinaure Associates, Inc, publishers, Sunderland, MA, USA.
- 24- الطه، هدى عبد الكريم و ابراهيم، ماجد عبد الحميد و صالح، انسام مهدي (2012). تأثير الاوكسينات 2,4-D و NAA في استحثاث الكالس وتحفيز الاجنة الخضرية من زراعة البراعم الابيطية لنبات الاناناس *Ananas comosus* L. Merr. cv. Del Mont بتقنية زراعة الانسجة. المجلة الاردنية في العلوم الزراعية. المجلد 8 العدد (2) : 243-252.
- 25- Mehaboob, V. M.; Faizal, K.; Raja, P.; Thiagu, G.; Aslam, A. and Shajahan A. (2019). Effect of nitrogen sources and 2,4-D treatment on indirect regeneration of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) using leaf base explants. J Plant Biotechnol., (46):17-21.